

# SLC26A4 基因在大前庭水管综合征和/或 Mondini 畸形患儿中突变频率的观察\*

刘亚青<sup>1</sup> 黄正华<sup>1</sup> 孙晨<sup>1</sup> 沈小飞<sup>1</sup> 李伟<sup>1</sup> 李琦<sup>1,2</sup>

**[摘要]** 目的:评估 SLC26A4 基因在大前庭水管综合征(EVAS)和/或 Mondini 畸形(MD)患儿中的突变频率,为临床耳聋的分子诊断提供证据。方法:对 74 例患儿行颞骨薄层 CT 检查,并进行二代测序,分析 SLC26A4 基因编码的外显子。结果:共发现 EVAS 合并 MD(E+M)37 例,单独 EVAS(E)28 例,单独 MD(M)9 例。74 例患儿中 66 例(89.2%)发现突变,其中双等位基因突变 64 例(86.5%),单等位基因突变 2 例(2.7%)。不同组的 SLC26A4 突变检出率差异有统计学意义( $P < 0.001$ ),M 组突变发生率明显低于 E 组、E+M 组( $P < 0.001$ )。E 组 28 例中发现 SLC26A4 双等位基因 27 例(96.4%),单等位基因 1 例(3.6%);E+M 组 37 例中发现 SLC26A4 双等位基因 37 例(100%);M 组 9 例中只发现 1 例(11.1%)携带 SLC26A4 单杂合突变。结论:EVAS 合并 MD、单独 EVAS 与单独 MD 有着完全不同的发病机制,早期 EVAS 和/或 MD 患儿的临床遗传学诊断有助于提供听力损失遗传原因的精确信息和遗传咨询,从而实施适当的疾病控制和预防措施,下一代测序技术在耳聋的分子诊断中发挥愈加重要的作用。

**[关键词]** 聋;大前庭水管综合征;SLC26A4 基因;Mondini 畸形;内耳畸形

**DOI:**10.13201/j.issn.2096-7993.2021.10.006

**[中图分类号]** R764.43 **[文献标志码]** A

## Difference of SLC26A4 gene mutation frequency between patients with large vestibular aqueduct syndrome and/or Mondini dysplasia

LIU Yaqing<sup>1</sup> HUANG Zhenghua<sup>1</sup> SUN Chen<sup>1</sup> SHEN Xiaofei<sup>1</sup> LI Wei<sup>1</sup> LI Qi<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Children's Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing, 210008, China; <sup>2</sup>Medical School of Nanjing University)

Corresponding author: LI Qi, E-mail: liqi71520@sina.com

**Abstract Objective:** The purpose of this study was to evaluate the mutation frequency of SLC26A4 gene in patients with enlarged vestibular aqueduct syndrome(EVAS) and/or Mondini dysplasia(MD), so as to provide evidence for molecular diagnosis of deafness. **Methods:** In total, 74 patients with sensorineural hearing loss were included in this study. All patients underwent thin-layer CT examination of temporal bone. The coding exons of SLC26A4 were analyzed by second-generation sequencing in all subjects. **Results:** Among them, 37 patients with EVAS and MD(E+M group), 28 patients with EVAS and without MD(E group), and 9 patients with isolated MD(M group) were identified. In 74 cases, 66 cases(89.2%) were found to have mutation, including 64 cases(86.5%) of biallelic mutation and two cases(2.7%) of single allele mutation. The detection rate of SLC26A4 in different groups was statistically significant( $P < 0.001$ ). The mutation rate in group M was significantly lower than that in Group E and E+M( $P < 0.001$ ). In Group E, 27 cases(96.4%) had SLC26A4 biallelic mutations and one case(3.6%) had SLC26A4 single allele mutation, respectively; in Group E+M, 37 cases(100%) had SLC26A4 biallelic mutations; in group M, only one patient(11.1%) carried monoallelic mutations of the SLC26A4 gene. **Conclusion:** There are totally different pathogenesis in Chinese EVAS patients with or without MD, or isolated MD. Early clinical genetic diagnosis of patients with EVAS and/or MD helps to provide accurate

\*基金项目:南京市医学科技发展资金重点项目(No:ZKX19041)

<sup>1</sup>南京医科大学附属儿童医院耳鼻咽喉头颈外科(南京,210008)

<sup>2</sup>南京大学医学院

通信作者:李琦,E-mail:liqi71520@sina.com

- [14] Andreou NP, Legaki E, Dovrolis N, et al. B-cell activating factor (BAFF) expression is associated with Crohn's disease and can serve as a potential prognostic indicator of disease response to Infliximab treatment [J]. Dig Liver Dis, 2021, 53(5): 574-580.
- [15] Cheng CW, Tang KT, Fang WF, et al. Synchronized expressions of serum osteopontin and B cell-activating

factor in autoimmune thyroid disease [J]. Eur J Clin Invest, 2019, 49(7): e13122.

- [16] Wang XZ, Wan Z, Xue WJ, et al. B-Cell Activating Factor Predicts Acute Rejection Risk in Kidney Transplant Recipients: A 6-Month Follow-Up Study [J]. Front Immunol, 2019, 10: 1046.

(收稿日期:2021-05-05)

information about the genetic causes of hearing loss, provide genetic counseling, and implement appropriate disease control and prevention measures. Next generation sequencing technology plays an increasingly important role in molecular diagnosis of deafness.

**Key words** deafness; enlarged vestibular aqueduct syndrome; *SLC26A4* gene; Mondini dysplasia; inner ear malformation

*SLC26A4* 基因定位于人类染色体 7q31, 包含 21 个外显子和开放阅读框架(open reading frame) 2343 bp, 与前庭水管扩大、Mondini 畸形(Mondini dysplasia, MD) 伴感音神经性聋有关。*SLC26A4* 基因(DFNB4, MIM 605646) 编码 Pendrin, 是中国除 *GJB2* 基因外引起隐性遗传性感音神经性听力损失(sensorineural hearing loss, SNHL) 第二常见的基因<sup>[1]</sup>。大前庭水管综合征(enlarged vestibular aqueduct syndrome, EVAS)、MD 是最常见的内耳畸形, 常合并或者独立存在, 单独 MD 的发病明显少于单独 EVAS 以及 EVAS、MD 合并发病。

目前发现的 *SLC26A4* 基因突变已经超过 300 种(<http://deafnessvariationdatabase.org/>), 突变谱和突变热点有明显的种族差异, 中国人群最常见的突变是 c. 919-2A>G, 其次是 c. 2168A>G。下一代测序技术可以快速、经济、高效地对所有耳聋相关基因和非编码序列进行测定, 已经广泛应用于临床。本研究对 74 例经 CT 检查诊断为 EVAS 和/或 MD 的耳聋患儿进行下一代测序, 分析 *SLC26A4* 基因突变, 明确 EVAS 和/或 MD 的分子病因, 更好地指导临床实践。

## 1 资料与方法

### 1.1 一般资料

在南京医科大学附属儿童医院耳鼻咽喉头颈外科就诊、均经颞骨高分辨率 CT 检查的散发耳聋患儿 74 例纳入本研究, 均为汉族。74 例中, 男 45 例, 女 29 例; 年龄 6 个月~16 岁, 平均(6.1±4.4) 岁; 33 例为门诊患儿, 41 例为在我科行人工耳蜗植入患儿。所有患儿均进行病史调查、全身和耳鼻咽喉科专科查体以及听力学检查。听力学检测项目包括纯音测听、行为测听、声导抗、耳声发射和 ABR。23 例婴幼儿听力损失患儿无法行主观听力测试, 根据 ABR 的 V 波反应阈值估计听力损失的程 度。本研究经南京医科大学附属儿童医院伦理委员会审查批准, 并征得患儿家长知情同意, 签订书面知情同意书。

### 1.2 颞骨 CT 检查及畸形诊断

所有患儿行颞骨薄层高分辨率 CT 检查, 以前庭导水管(vestibular aqueduct) 外口至半规管总脚 1/2 距离处的宽度  $\geq 1.5$  mm 诊断为 EVAS。MD 影像学表现为耳蜗 1.5 圈, 中、顶圈融合。

### 1.3 下一代测序技术检测 *SLC26A4* 基因突变

将目标区域的 DNA 片段使用捕获芯片进行富集, 测序媒介为高通量二代测序平台, 由北京迈

基诺公司完成, 具体见文献[2], 简述如下: ①目标区域捕获测序: 对 104 个已知的耳聋候选基因采用目标序列捕获芯片(MyGenostics, GenCap) 进行捕获。随机打断基因组 DNA 变成片段, 在反应池与 Illumina PE 接头寡核苷酸混合物链接, 链接介导的聚合酶链式反应(ligation-mediated polymerase chain reaction, LM-PCR) 扩增产物, 然后纯化得到 DNA 文库。将纯化的 PCR 产物与目标区域捕获芯片进行杂交, 富集目标区域序列, 对捕获的序列使用 Illumina Next 500 测序平台进行测序, 对测序得到的原始数据进行图像识别和样本区分。②生物信息学分析: 原始测序数据去除污染和接头序列, 利用 BWA 软件(<http://bio-bwa.sourceforge.net/>) 和 NCBI 数据库人类基因组参考序列(hg19) 进行比对, 对所有的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism) 和插入缺失突变(inserts and deletions, INDEL) 通过 ANNOVAR 软件(<http://annovar.openbioinformatics.org/en/latest/>) 进行注释, 筛选掉正常人数据库中变异频率小于 0.05 的位点[正常人数据库包括千人基因组计划(<http://www.1000genomes.org/>)、Exome Variant Server(<http://evs.gs.washington.edu/EVS/>) 和 EXAC(<http://exac.broadinstitute.org/>)]。INDEL 和单核苷酸变异(single nucleotide variation) 使用 GATK 软件(<https://software.broadinstitute.org/gatk/>) 进行分析, 错义突变使用 SIFT(<http://sift.jcvi.org/>)、PolyPhen-2(<http://genetics.bwh.harvard.edu/pph2/>)、MutationTaster(<http://www.mutationtaster.org/>) 和 GERP++(<http://mendel.stanford.edu/SidowLab/downloads/gerp/index.html>) 软件进行保守性和致病性预测, 剪切位点突变使用 SPIDEX 软件(<http://www.deepgenomics.com/spidex>) 分析其保守性和致病性。③PCR 扩增和 Sanger 测序: 对所有经过筛选分析获得的变异位点进行 PCR 和 Sanger 测序验证。PCR 验证的引物序列见文献[3], PCR 产物在 ABI 3130 Genetic Analyzer(Applied Biosystems) 测序仪上进行测序, 并经 Sanger 测序分析证实, 再在家系成员中进行共分离验证。

### 1.4 统计学分析

*SLC26A4* 基因在单独 EVAS 组(E 组)、EVAS 合并 MD 组(E+M 组) 和单独 MD 组(M 组) 的突变频率比较使用 Friedman 秩和检验(*M* 检验), 使用 State7.0 软件包,  $P < 0.05$  为差异有

统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般情况

E 组 28 例, E+M 组 37 例, M 组 9 例。所有内耳影像学异常均为双侧改变(图 1~3)。

### 2.2 *SLC26A4* 基因突变检出情况

74 例患儿中 66 例(89.2%)发现突变,其中双等位基因突变 64 例(86.5%),单等位基因突变 2 例(2.7%),8 例未发现突变。不同组的 *SLC26A4* 检出率差异有统计学意义( $P < 0.001$ ),M 组突变发生率明显低于 E 组、E+M 组( $P < 0.001$ ),而 E 组、E+M 组之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。E 组 28 例中发现 *SLC26A4* 双等位基因 27 例(96.4%),单等位基因 1 例(3.6%);E+M 组 37

例中发现 *SLC26A4* 双等位基因 37 例(100%);M 组 9 例中只发现 1 例(11.1%)携带 *SLC26A4* 单杂合突变 c.919-2A>G,其他 8 例(88.9%)未发现突变。

74 例患儿中共检测出 *SLC26A4* 突变 21 种,20 种(95.2%)在 E 组和 E+M 组中发现。所有突变方式中,c.919-2A>G 在突变的等位基因中频率最高(82/128,64.1%),其次为 2168A>G(12/128,9.4%)和 1174A>T(5/128,3.9%)。具体突变见表 2,均为文献已经报道的突变。

对所有携带 *SLC26A4* 基因变异者的其他耳聋相关突变进行检测,1 例 *SLC26A4* 基因 c.919-2A>G 纯合突变的患儿同时携带 *GJB2* 235delC 杂合突变,未发现线粒体 DNA 12SrRNA 1555A>G 突变。

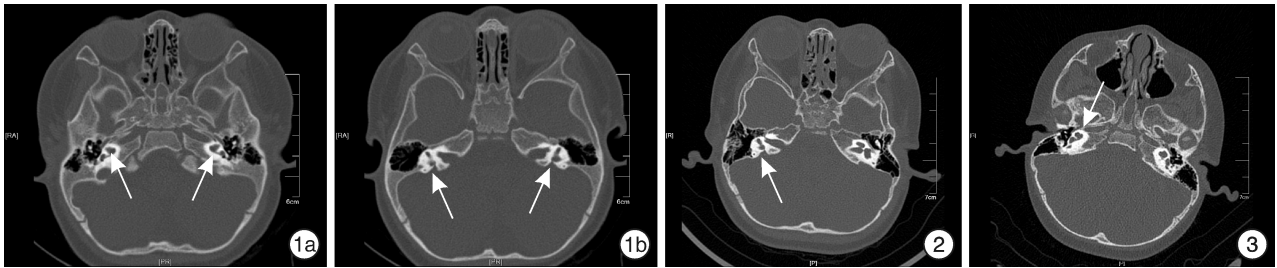


图 1 EVAS 合并 MD 的轴位 CT 1a:耳蜗 1.5 圈,中、顶圈融合(白色箭头所示);1b:同一患儿前庭导水管扩大(白色箭头所示);图 2 单独 EVAS 的轴位 CT 右侧白色箭头,左侧因为体位不典型未标注;图 3 单独 MD 的轴位 CT 右侧白色箭头,左侧因为体位不典型未标注。

## 3 讨论

*SLC26A4* 基因家族也称溶质转运家族,编码跨膜蛋白,是多种阴离子转运体的组成部分,作用是维持正常的细胞间电解质交换和物质代谢。研究显示 *SLC26A4* 基因表达产物 Pendrin 蛋白在内耳的表达部位主要是耳蜗外沟细胞、内淋巴管和内淋巴囊<sup>[4]</sup>。*SLC26A4* 基因突变可发生 SNHL,这类 SNHL 常合并 EVAS,或伴甲状腺肿(Pendred 综合征)。*SLC26A4* 基因突变引起的听力损失表型具有人种差异,Pendred 综合征在我国罕见报道,但是 EVAS 的发病比例较高。*SLC26A4* 基因突变引起的听力损失在儿童听障人群中颇为常见,一般为双侧 SNHL,听力损失程度表现不一,但常呈波动性听力损失,也可稳定一段时间或者进行性下降,最终出现重度-极重度 SNHL。目前认为 Pendrin 蛋白变化可以影响甲状腺功能和 EVAS 的内耳畸形听力损失表型,*SLC26A4* 突变影响到 Pendrin 蛋白功能,导致 SNHL 和颞骨畸形的发生,但是 Pendrin 蛋白的功能并未完全丧失,仍有一定的转运功能,可以维持甲状腺的作用<sup>[4]</sup>。

本研究 74 例患儿中 66 例(89.2%)发现突变,E 组 28 例中发现 *SLC26A4* 双等位基因 27 例(96.4%),单等位基因 1 例(3.6%);E+M 组 37

例中发现 *SLC26A4* 双等位基因 37 例(100%);说明 E 组和 E+M 组 *SLC26A4* 基因有相当高的双等位基因发生率,尤其是 E+M 组,100%发现双等位基因,突变谱也类似,说明 E 组和 E+M 组有着相似的分子致病机制。耳聋的分子诊断在疾病的病因学中可以起重要作用。E 组和 E+M 组最常见的突变为 c.919-2A>G,其次为 2168A>G 和 1174A>T。Huang 等<sup>[5]</sup>的研究结果和我们的相似,在 EVAS 和 MD 组 50 例中,*SLC26A4* 的双等位基因和单等位基因突变率分别为 92%(46/50)和 6%(3/50),单独 EVAS 组 *SLC26A4* 双等位基因发生率也为 92%(46/50)。不同人种间 EVAS 和 MD、单独 EVAS 的 *SLC26A4* 基因突变率和突变谱存在明显差异,*SLC26A4* 基因突变在高加索人种的突变频率明显较低,在 EVAS 中的突变检测率也低得多<sup>[6-8]</sup>。Azaiez 等<sup>[9]</sup>报道 EVAS 合并 MD 患者 *SLC26A4* 双等位基因突变发生率为 24.1%(28/116),单独的 EVAS 患者中双等位基因突变携带频率为 11.1%(38/341)。EVAS 的 *SLC26A4* 基因突变在东亚人种的中国台湾、韩国、日本发生频率为 87%~100%,但是东亚人种之间似乎也有差异,韩国人群最常见的突变为 p.H723R,发生频率 61%,而 c.919-2A>G 只有



24%<sup>[10-12]</sup>。SLC26A4 基因突变研究多在 EVAS, 对于 EVAS 合并 MD 或单独 MD 则极少涉及, 中国台湾 50 例 EVAS 和/或 EVAS+其他畸形 68% 发现 SLC26A4 双等位基因突变, 未具体说明合并

或单独 MD 例数<sup>[13]</sup>, 在单独的 EVAS 和 EVAS 合并 MD 患者中似乎人种与环境因素更加影响 SLC26A4 基因突变的发生率。

表 2 SLC26A4 基因的突变谱和发生频率

畸形	基因型	氨基酸	发生频率/例(%)
单独 EVAS	c. 919-2A>G/c. 919-2A>G	剪切位点	9(32.1)
	c. 919-2A>G/c. 2168A>G	剪切位点/H723R	4(14.3)
	c. 919-2A>G/c. 1174A>T	剪切位点/N392Y	2(7.1)
	c. 919-2A>G/c. ivs15+5G>A	剪切位点	1(3.6)
	c. 919-2A>G/c. 1079C>T	剪切位点/A360V	1(3.6)
	c. 919-2A>G/c. 1226G>A	剪切位点/R409H	1(3.6)
	c. 919-2A>G/c. 1229C>T	剪切位点/T410M	1(3.6)
	c. 919-2A>G/589G>A	剪切位点/G197R	1(3.6)
	c. 919-2 A>G/c. 1586T>G	剪切位点/I529S	1(3.6)
	c. 919-2 A>G/c. 1262A>C	剪切位点/Q421P	1(3.6)
	c. 919-2 A>G/c. 1318A>T	剪切位点/K440X	1(3.6)
	c. 919-2 A>G/c. 1975G>C	剪切位点/V659L	1(3.6)
	c. 2168A>G/c. 2168A>G	H723R /H723R	1(3.6)
	c. 1174A>T/c. 1343C>T	N392Y/S448X	1(3.6)
	c. 919-2A>G/	剪切位点	1(3.6)
EVAS 合并 MD	c. 919-2A>G/c. 919-2A>G	剪切位点	14(37.8)
	c. 919-2A>G/c. 2168A>G	剪切位点/H723R	4(10.8)
	c. 919-2A>G/589G>A	剪切位点/G197R	2(5.4)
	c. 919-2A>G/c. 1229C>T	剪切位点/T410M	2(5.4)
	c. 919-2A>G/c. 1174A>T	剪切位点/N392Y	1(2.7)
	c. 919-2A>G/c. 414delT	剪切位点/移码	1(2.7)
	c. 919-2A>G/c. 1586T>G	剪切位点/I529S	1(2.7)
	c. 919-2A>G/c. 1548insC	剪切位点/移码	1(2.7)
	c. 919-2A>G/c. 1079C>T	剪切位点/A360V	1(2.7)
	c. 919-2A>G/ivs15+5G>A	剪切位点	1(2.7)
	c. 919-2A>G/c. 1825delG	剪切位点/移码	1(2.7)
	c. 919-2A>G/c. 1829C>A	剪切位点/S610X	1(2.7)
	c. 919-2A>G/c. 1991C>T	剪切位点/A664V	1(2.7)
	c. 919-2A>G/c. 2027T>A	剪切位点/L676Q	1(2.7)
	c. 919-2A>G/c. ivs18-1G>A	H723R/S532R	1(2.7)
	c. 1174A>T/c. 754T>C	剪切位点	1(2.7)
	c. 2168A>G /1594A>C	N392Y/S252P	1(2.7)
	c. 2168A>G/1673A>T	H723R/N558I	1(2.7)
	c. 1124A>G/c. 1409G>A	Y375C/R470H	1(2.7)
	单独 MD	c. 919-2A>G/	剪切位点

EVAS 可以独立或者合并 MD, MD 也可以单独存在。EVAS 合并 MD 时, 临床往往容易忽视, 需要临床医师或者放射科医师根据高分辨率 CT 仔细分辨。目前大部分为 EVAS 的分子病因学研究, 对 MD 的描述很少, 发病机制亦不十分清晰, 可能与内耳畸形中单独 MD 的发病率较低有关。本研究发现单独 MD 的患儿(9 例)明显少于 EVAS (28 例)、EVAS 合并 MD(37 例), 和临床所见一致。MD 的特点为耳蜗中、顶圈融合, 只有 1.5 圈,

确切发病机制仍不清楚。从胚胎发育学上看, 人耳的发育开始于胚胎第 4 周, 膜迷路源于外胚层, 而骨迷路/耳囊源于围绕初始膜迷路的中胚层和神经嵴; 胚胎第 5 周, 耳蜗管的原基从听泡的腹侧开始发育, 逐渐向前延伸并开始卷曲; 到第 8 周, 耳蜗形成 1.5 圈; 第 10 周形成 2 圈; 第 25 周耳蜗管形成 2.5 圈。骨膜迷路发育到成年大小时, 软骨囊骨化成骨迷路才发生; 骨迷路形成从第 15 天开始到第 21 周结束, 妊娠第 7 周内耳发育停止形成 MD<sup>[14]</sup>。

本研究发现 M 组 9 例中只有 1 例(11.1%)携带 *SLC26A4* 单杂合突变 c. 919-2A>G, 其他 8 例(88.9%)未发现突变。Huang 等<sup>[5]</sup>也发现了类似的结果, 28 例 MD 患者中, 仅 1 例(3.6%) *SLC26A4* 单等位基因突变 c. 919-2A>G。尽管样本数较少, 但结合文献认为, 单独 MD 的发病机制可能与 *SLC26A4* 基因关系不大。欧美文献单独报道 MD 的例数也很少, 多在 EVAS 的文献里描述。Pourová 等<sup>[15]</sup>在 22 例前庭水管扩大和/或 MD 患者中发现, 6 例(27.3%)携带 *SLC26A4* 双等位基因突变, 3 例(13.6%)具有单等位基因突变, 未具体描述单独 MD 的突变发生情况。Nonose 等<sup>[16]</sup>在 15 例听力损失患者中(6 例 EVAS, 5 例 MD, 4 例怀疑 Pendred 综合征)仅发现 2 例单杂合突变。目前尚未有单独 MD 突变人种差异的报道。

欧美文献报道的与 EVAS 有关的其他 2 个基因 *FOXI1*、*KCNJ10* 在东亚人群中极少发现, 本研究也未发现这 2 个基因的突变, 可能存在人种差异或者受到遗传及环境因素的影响<sup>[17-18]</sup>。

EVAS 和 MD、单独 EVAS 和单独 MD 有着完全不同的发病机制, 单独 MD 的发病机制可能与 *SLC26A4* 基因无关。早期 EVAS 和/或 MD 患儿的临床遗传学诊断有助于提供听力损失遗传原因的精确信息和遗传咨询, 实施适当的疾病控制和预防措施, 对于该疾病的早期干预有重要作用, 例如避免剧烈运动、头部创伤、上呼吸道感染和噪声刺激, 以及助听器或人工耳蜗植入。下一代测序技术的广泛应用, 在耳聋的分子诊断中发挥愈加重要的作用<sup>[8]</sup>。EVAS 和 MD、单独 EVAS 的人工耳蜗植入效果确切; 而 MD 病例少, 人工耳蜗植入效果还需积累病例和长期随访。

#### 参考文献

- [1] 薛文悦, 陈正依. *SLC26A4* 基因突变致前庭水管扩大听力损失机制的研究进展[J]. 中华耳科学杂志, 2019, 17(5): 768-772.
- [2] Koohiyan M. Next generation sequencing and genetics of hereditary hearing loss in the iranian population: New insights from a systematic review[J]. Int J Pediatr Otorhinolaryngol, 2020, 129: 109756.
- [3] 袁永一, 戴朴, 朱庆文, 等. 1552 例重度感音神经性聋患者与 *SLC26A4* 基因 IVS7-2 A>G 突变相关的全序列分析[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2009, 44(6): 449-454.
- [4] Mey K, Muhamad AA, Tranebjaerg L, et al. Association of *SLC26A4* mutations, morphology, and hearing in pendred syndrome and NSEVA[J]. Laryngoscope, 2019, 129(11): 2574-2579.
- [5] Huang S, Han D, Yuan Y, et al. Extremely discrepant mutation spectrum of *SLC26A4* between Chinese patients with isolated Mondini deformity and enlarged vestibular aqueduct[J]. J Transl Med, 2011, 9: 167.
- [6] Dai P, Stewart AK, Chebib F, et al. Distinct and novel *SLC26A4*/Pendrin mutations in Chinese and U. S. patients with nonsyndromic hearing loss[J]. Physiol Genomics, 2009, 38(3): 281-290.
- [7] Madden C, Halsted M, Meinzen-Derr J, et al. The influence of mutations in the *SLC26A4* gene on the temporal bone in a population with enlarged vestibular aqueduct[J]. Arch Otolaryngol Head Neck Surg, 2007, 133(2): 162-168.
- [8] Liu Y, Wang L, Feng Y, et al. A New Genetic Diagnostic for Enlarged Vestibular Aqueduct Based on Next-Generation Sequencing[J]. PLoS One, 2016, 11(12): e0168508.
- [9] Azaiez H, Yang T, Prasad S, et al. Genotype-phenotype correlations for *SLC26A4*-related deafness[J]. Hum Genet, 2007, 122(5): 451-457.
- [10] Lee HJ, Jung J, Shin JW, et al. Correlation between genotype and phenotype in patients with bi-allelic *SLC26A4* mutations[J]. Clin Genet, 2014, 86(3): 270-275.
- [11] Tsukamoto K, Suzuki H, Harada D, et al. Distribution and frequencies of PDS(*SLC26A4*) mutations in Pendred syndrome and nonsyndromic hearing loss associated with enlarged vestibular aqueduct: a unique spectrum of mutations in Japanese[J]. Eur J Hum Genet, 2003, 11(12): 916-922.
- [12] Choi BY, Stewart AK, Nishimura KK, et al. Efficient molecular genetic diagnosis of enlarged vestibular aqueducts in East Asians[J]. Genet Test Mol Biomarkers, 2009, 13(5): 679-687.
- [13] Lin YH, Wu CC, Lin YH, et al. Targeted Next-Generation Sequencing Facilitates Genetic Diagnosis and Provides Novel Pathogenetic Insights into Deafness with Enlarged Vestibular Aqueduct[J]. J Mol Diagn, 2019, 21(1): 138-148.
- [14] Lim R, Brichta AM. Anatomical and physiological development of the human inner ear[J]. Hear Res, 2016, 338: 9-21.
- [15] Pourová R, Janousek P, Jurovcik M, et al. Spectrum and frequency of *SLC26A4* mutations among Czech patients with early hearing loss with and without Enlarged Vestibular Aqueduct (EVA) [J]. Ann Hum Genet, 2010, 74(4): 299-307.
- [16] Nonose RW, Lezirovitz K, de Mello Auricchio M, et al. Mutation analysis of *SLC26A4* (Pendrin) gene in a Brazilian sample of hearing-impaired subjects [J]. BMC Med Genet, 2018, 19(1): 73.
- [17] Dai P, Huang LH, Wang GJ, et al. Concurrent Hearing and Genetic Screening of 180,469 Neonates with Follow-up in Beijing, China [J]. Am J Hum Genet, 2019, 105(4): 803-812.
- [18] 柴福, 赵海亮, 韩晓东, 等. 芯片捕获高通量测序检测耳聋相关基因 *SLC26A4* 新突变的意义[J]. 临床耳鼻咽喉头颈外科杂志, 2019, 33(4): 357-361.